

BULLETIN

DU

DÉPARTEMENT DE L'AGRICULTURE

AUX

INDES NÉERLANDAISES.

N^o. III.

(MICRO-BIOLOGIE I)

BUITENZORG

IMPRIMERIE DU DÉPARTEMENT

1906.

BULLETIN

DÉPARTEMENT DE L'AGRICULTURE

INDICES NÉERLANDAIS

SOMMAIRE

-
- E. DE KRUYFF, Les Microbes à Amylase. P. 1.
J. J. SMITH, *Milletia Nieuwenhuisii* n. sp. P. 17.

LES MICROBES à AMYLASE.

par

E. DE KRUYFF.

PREMIÈRE PARTIE: LES MICROBES AÉROBES.

§ 1 Introduction.

En voyant les transformations que les divers matériaux contenant de l'amidon, subissent sous l'influence des microorganismes, il est clair que ces organismes sont très répandus dans la nature. Et en isolant ces microbes d'un de ces matériaux, soit d'une feuille, soit du sol, soit de l'eau d'égout, on voit qu'ils font partie des sections les plus éloignées du système naturel.

Quoique le rôle joué par ces organismes soit assez important, ils ont été jusqu'ici très peu étudiés. Le premier savant qui remarqua la transformation d'un empois de fécule fut de Saussure (Annales de Phys. et de Chimie Tome 11 1819) Cet empois ayant été infecté par les microbes de l'air, la réaction de l'iode disparaissait.

Wortmann (Zeitschrift für physiologische Chemie Tome 6 pag. 217) démontra que les microbes isolés d'une pomme de terre pourrie font également disparaître dans un empois d'amidon la réaction de l'iode. Si l'on avait ajouté divers sucres à cet empois, il était impossible de supprimer la réaction.

De ces faits, on peut donner deux explications. La première et la plus naturelle est que les microbes isolés appartenaient à des espèces différentes et que les conditions de culture favorisaient davantage les bactéries ne

sécrétant pas de l'amylase que les autres, et pour cette raison les dernières restaient à l'arrière-plan. La deuxième explication serait la suivante: il se pourrait que par hasard l'auteur n'ait isolé que des bactéries à amylase; mais chez certaines de ces bactéries, comme nous le verrons plus tard, la sécrétion de l'amylase est fortement influencée par la nutrition et il est possible que Wortmann n'ait isolé que des bactéries dont le pouvoir sécréteur soit ainsi sensible aux conditions de culture.

Fermi (Die Leim und Fibrin lösenden und die diastatischen Fermente der Micro-organismen. Centralblatt für Bact. und Par. Band 7 pag. 469) cultiva les microbes dont il voulait déterminer la sécrétion de l'amylase dans un bouillon de viande ou sur de la gélatine, et il ajoutait ces cultures à une solution d'empois contenant du thymol. Il recherchait ensuite la présence des sucres formés avec la liqueur de Fehling.

Dans une deuxième communication sur ce sujet, intitulée: Beitrag zum Studium der von den Micro-organismen abgesonderten diastatischen und inversions Fermente (Centralblatt f. Bact. und Par. Band 12 pag. 713) il mentionne les résultats obtenus avec 62 sortes de bactéries. De ces 62 espèces, 20 ont donné de l'amylase e.a. tous les Streptotrix excepté Streptotrix (Actinomyces) carnea. Wysman (De diastase beschouwd als een mengsel van maltase en dextrinase. Acad. proefschrift 1889 pag. 120) isola sur des plaques de gélatine contenant de l'amidon soluble les bactéries à amylase d'une solution d'empois infectée par les microbes de l'air. Avant l'expérience, l'amidon se trouvait dans la gélatine sous forme de petits globules qui troublaient la plaque. L'amylase produite par les microbes diffusait dans la gélatine, dissolvait les globules, formant ainsi autour de chaque colonie une zone transparente dans la plaque trouble.

Pfeffer (Ueber die regulatorische Bildung von Diastase Kön. Sachs. Academie von Wissenschaften 1896) donne une description des expériences du Dr. KATZ qui avaient pour but de trouver l'influence exercée par les sucres et les peptones sur la sécrétion de l'amylase par les microbes. Il employa des cultures de *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* et *Bacterium Megatherium* et trouva que cette sécrétion dépend et de l'organisme et de la nutrition. *Penic. glauc.* par exemple ne donne plus d'amylase quand le milieu de culture contient 10% de sucre; chez *Aspergillus niger* ceci n'arrive que quand cette quantité est de 30% de sucre de canne.

Hueppe (Mittheilungen a.d. kaiserl. Gesundheitsamt Band 2) et Kayser (Ann. de l'Institut Pasteur Tome 8 pag. 737) décrivent quelques ferments lactiques qui sécrètent de l'amylase.

Van Iterson (Kon. Acad. van Wetenschappen, séance du 28 Juillet 1902) signale le fait que la bactérie dénitrifiante *Bacterium Stutzeri* sécrète de l'amylase.

Le Bacille amylozyme de Perdrix transforme directement la fécule de pomme de terre en un sucre qu'il fait alors fermenter en donnant de l'alcool éthylique et de l'alcool amylique. (Perdrix Sur les fermentations produites par un microbe anaérobe de l'eau. Annales de l'Institut Pasteur Tome 5 pag. 287).

Beyerinck décrit dans une communication intitulée: Sur la fermentation et le ferment butylique (Archives néerlandaises Tome 29 pag. 1-68) deux anaérobies qui donnent de l'amylase: *Granulobacter butylicum* et *Granulobacter saccharobutyricum*. Les deux processus: l'accumulation de la granulose et la sécrétion de l'amylase, ont lieu simultanément.

Les bactéries qui rouissent le lin, *Granulobacter urocephalum* et *Granulobacter pectinovorum* (Beyerinck and

van Delden. On the bacteria which are active in flaxrotting. Kon. Acad. van Wetenschappen Jan. 1904) sécrètent aussi de l'amylase.

Il en est de même avec l'*amylobacter butylicus* Duclaux (Ann. de l'Institut Pasteur Tome 9 pag. 811).

§ 2 Méthodes pour isoler les microbes sécrétant de l'amylase.

Pour isoler ces organismes, on peut suivre deux chemins. Quand le matériel est riche en microbes de cette nature, il suffit de faire un ensemencement sur une plaque de gélose contenant de l'amidon, pour se faire une idée de la quantité de ces micro-organismes, du nombre des espèces, etc. Quand au contraire le milieu ne contient qu'un peu de ces microbes il n'y a pas d'autre moyen que de tâcher d'augmenter ce nombre par la culture élective.

La propriété de sécréter de l'amylase est très répandue chez les micro-organismes. La plupart des champignons inférieurs sécrètent de l'amylase. Chez les bactéries cette propriété n'est pas aussi répandue, et chez les saccharomyces elle manque totalement. Les myxomycètes peuvent sécréter dans certaines conditions de l'amylase. Ainsi, suivant les recherches de Wortmann, le myxomycète *Fuligo varians* a cette propriété.

Les myxomycètes sont facile à cultiver sur gélose neutre contenant une décoction de vieilles feuilles, 1 à 2 pour mille par exemple.

On peut assez bien suivre sur cette plaque tout le cycle du développement de la spore jusqu'au plasmodium et jusqu'au sporange. En ajoutant $\frac{1}{4}\%$ d'amidon, on a un milieu de culture où la sécrétion d'amylase est très facile à voir si elle a lieu. J'ai fait cette expérience avec les myxomycètes *Craterium leucocephalum* et une *Heterodermaceae*, mais ni l'un ni l'autre n'a donné de l'amylase.

Le nombre des microbes sécrétant de l'amylase varie énormément dans les sols de diverses provenances. Il est possible d'employer ce facteur pour comparer les sols dans l'examen bactériologique. Naturellement il faut toujours travailler dans des conditions tout à fait identiques. Les résultats obtenus par cette méthode avec une quantité de sols pris en divers points du Jardin Botanique ont fait voir que le temps nécessaire pour faire disparaître la réaction de l'iode dans la solution d'empois était très variable, et qu'il était plus long lorsque le sol était considéré comme plus fertile.

Les plaques de gélose employées dans ces expériences avaient la composition suivante :

Amidon de pomme de terre	15
Source d'azote	1
$K_2 HPO_4$	0,5
$MgSO_4, FeCl_3$	traces
Gélose	15 à 20
Eau	1000

L'emploi de l'amidon cru au lieu d'amidon soluble a deux avantages importants: premièrement la sécrétion de l'amylase est très facilement reconnue sans l'emploi de l'iode, même quand elle est sécrétée en quantité minime et deuxièmement les organismes ne sécrétant pas de l'amylase ne croissent pas sur ce milieu, ce qui est d'un grand avantage quand on veut dénombrer les bactéries à amylase se trouvant dans un sol, etc. Je reviendrai dans le § 4 sur les raisons qui m'ont amené à donner la préférence à l'amidon de pomme de terre au lieu d'un autre amidon.

L'amylase donne un champ de diffusion dans lequel les grains de fécule sont dissous et par conséquent on aura une zone d'affaïssement et un cercle transparent dans la plaque trouble.

Il était impossible de préparer de la même manière une plaque de gélatine; la gélatine fondue exerçant une action deshydratante sur les granules de l'empois.

Les milieux de culture employés pour les cultures électives avaient la composition suivante :

Amidon de pomme de terre	0,2
Source d'azote	0,05
K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $FeCl_3$	traces
Eau	1000

L'emploi d'un milieu de culture si dilué se montrait d'une grande utilité chez ces cultures électives ; il est en effet impossible d'obtenir des élections exclusives avec des liquides plus concentrés.

§ 3 Action de l'amylase sur la plaque d'amidon.

Comme je l'ai remarqué déjà plus haut, une bactérie à amylase donne sur la plaque trouble un champ de diffusion transparent. En versant sur une plaque avec des colonies jeunes une solution d'iode, on voit que la plaque entière, y compris le champ de diffusion, se colore en bleu. Chez les plaques à colonies plus âgées, on obtient avec l'iode une image tout autre: Autour de la colonie est un cercle incolore tandis que le reste du champ de diffusion se colore plus ou moins fortement en rouge. Le bord du champ est toujours coloré en bleu intense plus foncé que le reste de la plaque.

Naturellement il existe toutes sortes de passages entre ces deux stades. Ce qu'on voit ici, ce sont les mêmes phases que Payen et Persoz (Annales de Phys. et de Chem. Tome 53 et 54) distinguaient dans l'action de l'amylase de malt sur un empois; à savoir: la phase liquéfifiante (la solution trouble devient transparente et se colore encore en bleu avec l'iode) et la phase saccharifiante (l'amidon soluble, granuleux ou amylocellulose, se

transforme d'abord en dextrines, qui se colorent en rouge avec la solution d'iode, puis en sucres réducteurs qui ne se colorent plus.)

Un point très remarquable est encore à mentionner. Une culture sur cette plaque placée pendant au moins 24 heures dans une température inférieure à 25 degrés montre toujours dans le bord de diffusion et quelquefois aussi dans le champ même, un précipité blanc, formé de petits globules. Ce précipité ne se dissout pas en chauffant la plaque, ne se colore plus avec l'iode et est insoluble pour l'amylase, aussi bien pour celle de malt que pour celle sécrétée par les microbes.

Non seulement l'amidon de pomme de terre, mais aussi celle du Phaseolus et du riz donnent ce précipité. Ce dernier apparaît toujours là où la réaction avec la solution d'iode démontre la granulose, aussi bien dans le champ de diffusion que dans ses bords ou la granulose est diffuse. (Coloration plus intense) Ce précipité qui se forme aussi sous certaines conditions dans une solution concentrée d'empois a été étudié par Maquenne. Cette transformation de l'empois est nommée par lui la rétrogradation de l'amidon. En employant de l'amidon soluble, même jusqu'à 10% et le placant dans les mêmes conditions, on ne voit pas apparaître ce précipité. L'addition de peptone contrarie la formation de ce précipité et c'est pour cela qu'on ne le voit pas non plus en employant les plaques de gélose de viande.

Quelquefois les bactéries croissent à l'intérieur de la gélose au lieu de croître sur la surface de la plaque de gélose-amidon. Elles croissent alors dans les granules de l'empois qu'elles remplissent tout à fait. Sur la surface, on ne voit que le début d'une colonie, ce qui rend très difficile la diagnose. Cette croissance particulière n'est pas une qualité constante d'une certaine bactérie mais

dépend de petites différences du milieu de culture, par exemple de la sécheresse de la plaque.

§ 4 Cultures électives avec l'amidon.

Pour ces cultures électives j'ai employé des milieux liquides, dont j'ai donné plus haut la composition. Pour la source d'azote, j'employais la peptone, la caséine, KNO_3 , NH_4Cl . Selon le milieu, diverses sortes de bactéries se développaient plus vite que les autres, excepté avec le KNO_3 qui donnait les mêmes résultats que le NH_4Cl . Les cultures électives se faisaient dans des Erlenmeyers, dans une couche de liquide mince (conditions aérobies) aux températures de 30, 37 et 45 degrés. Pour l'infection, j'ai toujours employé un sol du Jardin Botanique Aussitôt qu'une petite quantité de liquide ne donnait plus, même après l'ébullition, de coloration avec la solution d'iode, j'ensemençai de nouveau dans des conditions identiques. Les cultures électives étaient très exclusives: après trois ou quatre semences j'avais une culture ne contenant presque pas d'autres espèces que des bactéries à amylase.

Comme je l'ai résumé déjà dans l'introduction (Pfeifer), l'addition de sucres ainsi que celle de peptone a une grande influence sur la sécrétion de l'amylase. En particulier la peptone, même en petites quantités empêche déjà la sécrétion. En se basant sur cette propriété, on peut réunir les bactéries à amylase en deux groupes: 1° Les bactéries sécrétant aussi de l'amylase sur les milieux avec ou sans peptone (gélose de viande, etc.)

2° Les bactéries ne sécrétant de l'amylase que si la nourriture hydrocarbonée leur est offerte exclusivement sous forme d'amidon. C'est pour avoir une sécrétion d'amylase aussi grande que possible que j'ai choisi et pour les plaques et pour les liquides nutritifs, l'amidon de pomme de terre comme seule source de carbone. De

tous les amidons, celui de la pomme de terre contient le moins de matières solubles.

§ 5 Cultures électives avec les dextrines.

Au lieu de prendre pour ces cultures de l'amidon, on peut aussi bien employer la dextrine (dextrines). Les cultures électives marchent aussi bien et sont tout autant exclusives. Comme la seule réaction qui entre en discussion pour démontrer la présence de la dextrine (la solution d'iode) est bien moins sensible pour la dextrine que pour l'amidon, il faut prendre des solutions plus concentrées. Au lieu d'amidon, j'ajoutais à la gélose ou aux liquides 1/20‰ de dextrine. Dans tous les cas, je faisais des cultures sur les deux milieux, car la possibilité n'était pas exclue de l'existence de bactéries ne sécrétant que de la maltase et d'autres ne sécrétant que de la dextrinase. La littérature donne deux exemples de ces dernières: la bactérie de la pneumonie de Friedlander et *Bacterium oxydans* de Hennenberg. Quand aux bactéries qui ne peuvent transformer l'amidon que jusqu'aux dextrines, Villiers (Comptes Rendus Tome 112 pag. 435 et 536 et Tome 113 pag. 144) en donne un exemple dans le *Bacillus amylobacter*,

§ 6 Bactéries isolées par les cultures électives.

Le nombre de ces bactéries étant très grand, je ne fais suivre ici que les plus importantes. Comme il est presque impossible de travailler sous les Tropiques avec de la gélatine, j'ai employé pour démontrer la sécrétion de la trypsine des plaques de gélose qui furent préparées comme suit: Une solution de 1 1/2‰ de Na_2CO_3 , NaHCO_3 , ou $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ est saturée avec de la caséine en poudre très fine ajoutée par petites portions au liquide chaud. On ajoute cette solution à la gélose fondue et refroidie ensuite à 40 degrés, jusqu'à ce qu'elle contienne 1-1 1/2‰ de caséine. Par l'addition de 10

ou 15 gouttes d'une solution de CaCl_2 à 10‰, la caséine est précipitée comme caséate de calcium et reste suspendue dans la gélose sous forme d'un fin précipité blanc. La trypsine dissout la caséine et donne un champ transparent dans la gélose blanche. Cette gélose-caséine est très favorable pour remplacer les plaques de gélatine pour le dénombrement des microbes dans l'examen bactériologique de l'eau, du sol, etc.; la liquéfaction de de la couche de gelée n'ayant pas lieu.

I *Description des bactéries isolées avec l'amidon.*

A. Source d'azote NH_4Cl .

Température: 30 degrés.

Bacterium n° I.

Forme sur la gélose de viande des colonies blanches, un peu visqueuses, sécrète de la trypsine, ne dénitrifie pas et transforme KNO_3 en nitrite. Le bouillon-glucose ne fermente pas. La bactérie est un bâtonnet mobile long de $3,5\mu$ et large de $0,8\mu$. Elle appartient au groupe 1, c'est-à-dire à celui où la sécrétion de l'amylase n'est pas en rapport avec la nutrition.

Bacterium no. I_1 .

Forme sur la gélose des colonies jaunes, visqueuses sécrète de la trypsine, ne fermente pas le bouillon-glucose et transforme le nitrate en nitrite. Les cultures dans le bouillon montrent un voile à la surface du liquide. Il n'y a pas formation de spores. Bâtonnet mobile long de $2,5\mu$ et large de $0,4\mu$. Appartient au groupe 1.

Bacterium no. I_2

Forme sur la gélose de viande des colonies brun-clair et transparentes. Sécrète de la trypsine, ne dénitrifie pas et forme du nitrite. Une culture dans le bouillon forme au fond du liquide un précipité jaune foncé, Ne fermente pas le bouillon-glucose. La bactérie est un

bâtonnet immobile, ne formant pas de spores, long de 3μ et large de $0,7\mu$ Appartient au groupe 1.

Bacterium I₃.

Forme sur la gélose de viande des colonies blanches, visqueuses et sur le fond des cultures dans le bouillon un précipité blanc visqueux. Fermente le bouillon-glucose et forme du nitrite. Ne sécrète pas de trypsine Ne forme pas de spores. Bâtonnet mobile long de $2,5\mu$ et large de $0,3\mu$ Appartient au groupe 2.

Bacterium I₄.

Forme sur la gélose de viande des colonies transparentes, colorées, un peu brunes. Sécrète de la trypsine et transforme le nitrate en nitrite. Des spores n'ont pas été observées. Bâtonnet immobile, long de $1,5\mu$ et large de $0,3\mu$. Ne dénitrifie pas et ne fermente non plus le bouillon-glucose. En comparaison avec la sécrétion sur l'amidon, cette bactérie sécrète peu d'amylase sur la gélose de viande.

2. Température 37 degrés.

Bacterium no. II₁.

Des colonies blanches sur la gélose de viande; en vieillissant elles se colorent en brun. Ne fermente pas le bouillon-glucose, ne dénitrifie pas, ne forme pas de nitrite et sécrète de la trypsine. Des cultures de bouillon ont au fond un précipité blanc et visqueux. Des spores n'ont pas été observées. Bâtonnet mobile long de $2,5\mu$ et large de $0,4\mu$. Appartient au groupe 1.

Bacterium no. II₂.

Colonies blanches de forme irrégulière sur la gélose de viande, et qui s'attachent très fortement au milieu. Ne fermente pas le bouillon-glucose et forme du nitrite. Sécrète de la trypsine. Bâtonnet mobile long de 4 à $4,5\mu$ et large de $0,7\mu$ Appartient au groupe 1. Les spores sont ovales de $1,0\mu$ et terminales.

3. Température 45 degrés.

Bacterium no. III.

Des colonies blanches visqueuses sur la gélose de viande. Ne fermente pas le bouillon-glucose, ne forme pas de nitrite et ne dénitrifie pas. Sécrète de la trypsine. Bâtonnet immobile, formant des spores. Long de 4,5 μ et large de 1 μ . Appartient au groupe 1.

B. Source d'azote: peptone.

1. Température 30 degrés.

Bacterium no. IV₁.

Forme sur la gélose de viande des col. transparentes avec un milieu blanc. Ne fermente pas le bouillon-glucose et forme du nitrite. Sécrète de la trypsine et appartient au groupe 1. Bâtonnet immobile long de 4 μ et large de 0,8 μ . Les spores sont terminales et rondes.

Bacterium no. IV₂.

Les colonies sur la gélose ressemblent beaucoup à celles de *Bacillus mesentericus*. Elles colorent la gélose en brun clair. Ne forme pas de nitrite, ne fermente pas le bouillon-glucose, ne dénitrifie pas et sécrète de la trypsine. Bâtonnet mobile, long de 3 μ et large de 0,7 μ . Forme des spores et appartient au groupe 1.

2. Température 37.

Bacterium no. 5.

Sur la gélose de viande des colonies blanches sèches et nervées. Ne dénitrifie pas, ne fermente pas le bouillon-glucose et ne forme pas de nitrite. Sécrète de la trypsine. Bâtonnet mobile, formant des spores, long de 3 μ et large de 0,4 μ . Appartient au groupe 1.

3. Température 45 degrés.

Bacterium no. VI.

Les colonies sur gélose de viande ont un bord gonflé et s'attachent très fortement au milieu. Ne fermente pas le bouillon-glucose, forme du nitrite et sécrète de la

trypsine. Sur le surface d'une culture de bouillon un voile très gonflé se forme. Bâtonnet mobile, formant des spores, long de $3,5\mu$ et large de $0,6\mu$. Appartient au groupe 1.

C. Source d'azote: caséine.

1. Température 30 degrés.

Bacterium no. VII.

Colonies sur la gélose de viande d'un brun transparent. Fermente le bouillon-glucose et forme du nitrite. Sécrète de la trypsine et donne des chaines dans le bouillon. Bâtonnet mobile long de $1,5\mu$. Des spores ne sont pas observées. Appartient au groupe 1.

2. Température 37 degrés.

Bacterium no. VIII.

Colonies sur la gélose de viande blanches, visqueuses. Ne fermente pas le bouillon-glucose et forme du nitrite. Sécrète de la trypsine et ne dénitrifie pas. Bâtonnet long de $3,4$ et large de $1,1\mu$ les spores sont terminales. Appartient au groupe 1.

3. Température 45 degrés.

Bacterium no. IX.

Les colonies sur la gélose de viande sont bordées très nettement et sont d'une couleur blanche. Ne fermente pas le bouillon-glucose et ne sécrète pas de trypsine. Bâtonnet immobile, formant des spores; long de $3,5$ et large de $0,6\mu$. Appartient au groupe 1.

II. Description des bactéries isolées avec la dextrine.

Pour les cultures électives avec la dextrine le milieu était composé comme suit:

Dextrine Merck	0,500
KNO ₃ , ou caséine ou peptone	0,020
K ₂ HPO ₄	0,010
MgSO ₄ et CaCl ₂	traces
Eau distillée	1000

Les conditions étaient les mêmes que dans les cultures d'amidon.

A. Source d'azote: KNO_3 .

1. Température 30 degrés.

Bacterium no. X.

Les colonies sur la gélose de viande sont fluorescentes. Sur la plaque de dextrine elles sont blanches, non-fluorescentes et un peu visqueuses. Ne fermente pas le bouillon glucose, ne sécrète pas de trypsine et ne dénitrifie pas. Petit bâtonnet mobile long de $1,5\mu$ et ne formant pas de spores. Ce bacterium contient du glycogène et appartient au groupe 1.

2. Température 37 degrés.

Bacterium no. XI.

Sur la gélose de viande et aussi sur celle de dextrine, colonies blanches un peu jaune. Fermente le bouillon-glucose et sécrète de la trypsine. Bâtonnet mobile contenant du glycogène. Ne dénitrifie pas et appartient au groupe 1. Bâtonnet long de 3 et large de $0,8\mu$.

B. Source d'azote: caséine.

1. Température 30 degrés.

Bacterium no. XII.

Sur la gélose de viande, des colonies blanches avec une surface humide qui s'attachent fortement au milieu. Sur la gélose de dextrine, des colonies de forme irrégulière, colorées faiblement en jaune. De très petits bâtonnets longs de $0,8\mu$, sécrétant de la trypsine et ne fermentant pas le bouillon-glucose. Sur le fond des cultures dans le bouillon se forme un précipité blanc. Appartient au groupe 1.

2. Température 37 degrés.

Bacterium no. XIII.

Les colonies sur gélose de viande sont colorées en brun et pas transparentes, sur la plaque de dextrine des co-

lonies visqueuses un peu brunâtres. Ne fermente pas le bouillon-glucose sécrète de la trypsine et ne dénitrifie pas. Petit bâtonnet mobile contenant du glycogène et long de 1,5. Appartient au groupe 1.

3. Température 45 degrés.

Bacterium no. XIV.

Colonies sur la gélose de viande: petits globules transparents comme des gouttes d'eau. Sur la gélose de dextrine les colonies sont visqueuses et colorées en rose. Ne fermente pas le bouillon-glucose et ne sécrète pas de trypsine. Bâtonnets mobiles longs de 3 et larges de 0,6 μ . Spores ne sont pas observées. Appartient au groupe 1.

C. Source d'azote: peptone.

1. Température 30 degrés.

Bacterium no. XV.

Les colonies sur la gélose de viande s'attachent très fortement au milieu. Ne fermente pas le bouillon-glucose et sécrète de la trypsine. Bâtonnet mobile long de 3 et large de 0,8 μ . Les cultures dans le bouillon-glucose ont à leur surface un voile, portant de petits globules. Spores rondes et terminales. Appartient au groupe 1.

III. *Description des bactéries isolées par ensemencement direct du matériel sur la gélose d'amidon et qui ne sont pas encore décrites plus haut.*

Bacillus mesentericus.

Appartient au groupe 1.

Bacillus mycoides.

Isolé du sol, de l'eau, etc. Appartient au groupe 2.

Bacterium no. XVI.

Isolé d'une feuille pourrie. Colonies opaques sur la gélose de viande et qui en vieillissant se colorent en brunâtre. Ne fermente pas le bouillon-glucose et donne du nitrite. Ne sécrète pas de trypsine; des spores ne sont

pas formées. Bâtonnet mobile long de $2,6\mu$ et large de $0,5$. Appartient au groupe 1.

Ce travail a été commencé au Laboratoire de Microbiologie de l'Ecole Polytechnique de Delft. Je tiens à exprimer ici à M. le Prof. BEYERINCK mes remerciements sincères pour l'aide et pour les conseils qu'il a bien voulu me donner.

BUITENZORG, Mars 1906.

MILLETTIA NIEUWENHUISII n. sp.

von

J. J. SMITH.

Frutex alte scandens, trunco cylindrico, innovationibus pubescentibus. Ramuli teretes, paulum striati, glabrescentes, virides, apice in flagella elongata, internodiis longis, tenuia, volubilia, pilis brevibus reversis obsita, scabra, aphylla, stipulis tantum instructa, viridia, demum saepe exarescentia vel ramulos foliatos gignentia transientes. Folia alterna, cum stipulis nodis oblique incrassatis, tricostatis inserta, magna, petiolata, accrescenti-imparipinnata, 7-11foliolata, c. 17-75 cm. longa; petiolus c. 3.5-12.5 cm. longus, cum rachide paulum lateraliter compressus, supra canaliculatus et costis 2 applanatis instructus, subtus angulato-carinatus, parte inferiore 0.7-2 cm. longa calloso-incrassata, transverse sulcato-rugosa. Foliola petiolulata, opposita, oblonga, ovato-vel obovato-oblonga, obtuse cuspidata, basi obtusa vel rotundata, interdum acutiuscula, margine subrevoluta, integerrima, pin-ninervia, in utraque parte costae intermediae nervis lateralibus 4-7 patentibus, ascendentibus, curvatis, intra marginem anastomosantibus, subtus prominentibus, reticulo venarum supra leviter elevato, coriacea, supra nitida, viridia, subtus opaca et costa intermedia saepe lutescenti, inferiora c. 3-15 cm. longa, acumine 0.5-1.5 cm. longo, 1-7 cm. lata, terminalia c. 8.5-27 cm. longa, acumine c. 1.5-3 cm. longo, 2.5-11 cm. lata; petioluli calloso-incrassati, subteretes, supra subapplanati vel plus minusve

sulcati, transverse sulcato-rugulosi. Stipulae persistentes, parvae, subulatae, c. 0.3 cm. longae. Inflorescentiae numerosae, 1 vel plures in toris ad truncum et ramos crassos, nutantes, pedunculatae, late paniculatae, c. 40 cm. longae, ramulis patentibus, apice incurvis, dense racemosis, c. 10-20 cm. longis, pedunculo tereti, c. 6 cm. longo, rachide acute sexangulata, villosula, viridi vel fusca. Bracteae caducae, parvae, e basi cuneata valde dilatatae, apice rotundatae, abrupte subulato-acuminatae, valde concavae, extus puberulae, pallide virescentes, c. 0.2 cm. longae et latae. Flores spirali- et verticillato-dispositi, patentissimi, brevissime pedicellati. Pedicellus hirtellus, miniatus, c. 0.1 cm. longus. Bracteolae calyci utrinque alte adnatae et fere aequilongae, obtusangulo-carinatae, pallidae, hirtellae, apice libero suborbiculato vel subobovato, abrupte breviter acuminato, valde concavo, c. 0.1 cm. longo. Calyx campanulatus, a dorso leviter compressus, breviter 5dentatus, miniatus, pallide fulvo-hirtellus, c. 0.35 cm. longus, 0.37 cm. latus, dentibus inaequalibus, 2 superioribus brevissimis, latis, 3 inferioribus majoribus, late triangularibus, acutis, intermedio maximo. Petala parallela, fere aequilonga. Vexillum breviter unguiculatum, conduplicato-concavum, c. 1.1 cm. longum, 0.9 cm. latum, ungue cuneato, glabro, albo, c. 0.17 cm. longo, lamina ovato-orbiculari, obtusissima, extus breviter pallide fulvo-sericea, dilute miniata, macula longitudinali citrina ornata. Alae unguiculatae, c. 1.1 cm. longae, 0.275 cm. latae, ungue subsigmoideo, lineari, concavo, albo, c. 0.17 cm. longo, lamina oblique oblonga, obtusa, concava, margine superiore basi in dentem retroversum, triangulum, breviter obtuse lineari-acuminatum, 0.1 cm. longum excurrenti, glabra, margine inferiore sericeo-ciliata, miniata. Carinae petala vix cohaerentia, alis subsimilia sed paulo breviora, margine superiore minus, mar-

gine inferiore magis curvata, apice angustiora, concava, parte inferiore medio inflata, extus, margine superiore excepto, pallide fulvo-sericea, 1 cm. longa, 0.3 cm. lata, ungue 0.27 cm. dente 0.15 cm., longo. Stamina 10, diadelpha, alte connata, superum liberum, basi vexillo paulum adnatum, filiformia, subaequilonga, apice incurva, alba, c. 0.9 cm. longa, parte connata c. 0.65 cm. longa; antherae ovaes, dilute flavae, c. 0.07 cm. longae. Ovarium lineare, fere rectum, albescens, pallide fulvo-sericeum, 0.6 cm. longum, 2-1ovulatum; stylus subulatus, staminibus fere aequilongus et parallelus, glaber, basi tantum sericeus, 0.2 cm. longus, stigmatе parvo, capitato. Legumen pendulum, majusculum, crasse ellipsoideum vel oviforme, a dorso paulum compressum, utrinque obtusum vel plus minusve contractum, apiculatum, corticatum, desquamans, cinnamomeum, c. 7.5-9 cm. longum, 5.5-6.5 et 4-5 cm. diam., monospermum, pariete carnosio, intus albido, succo glutinoso repleto, 0.5-0.65 cm. crasso, indehiscens. Semen magnum, ovale vel plus minusve oviforme, estrophiolatum, integumento membranaceo, flavescenti, pallide viridi-venoso, c. 4.7-5.5 cm. longum, 3.6-4.8 cm. diam. Cotyledones crassissimae, durae, extus rugosae, dilute cinnamomeae, intus flavescenti-albae, basi breviter recte fissae, radícula supera, incurva, cum plumula sericea, in excavationem curvatam immersa, in totum 1.5 cm. longa.

Hab. Borneo, Bloe-oe [A. W. Nieuwenhuis n. 1294].

Die Beschreibung wurde angefertigt nach einem gut ausgebildeten Exemplar im botanischen Garten zu Buitenzorg [XVII F 32 a]. Dieses wurde 1897 während einer der Untersuchungsreisen unter Leitung des Herrn Prof. Dr. A. W. Nieuwenhuis vom Mantri Jaheri in Borneo, in der unter dem Namen Bloe-oe bekannten

Gegend gesammelt und in der Regenzeit 1897-98 in der Schlingpflanzenabteilung ausgepflanzt. Im Jahre 1906 blühte die Pflanze wahrscheinlich zum zweiten Male und der Stamm hat jetzt etwa 30 cm. über dem Boden 5.5 cm. Diam. erreicht.

Die grossen, reich verzweigten, weit abstehenden Blütenstände entwickelten sich reichlich und zwar meistens einige beisammen auf Knorren am Stamme bis in einer Höhe von c. 2.5 m. und liessen nicht nach durch die zwar kleinen, aber dicht gestellten und ziemlich lebhaft hellmennigrot gefärbten Blüten die Aufmerksamkeit auf sich zu lenken.

Von den unzählbaren Blüten setzten nur sehr wenige Frucht an, im ganzen nicht mehr als 15. Die stets einsamigen Früchte sind gross, eiförmig oder ellipsoidisch und am Grunde und an der Spitze häufig mehr oder weniger zusammengezogen. Die dickfleischige, einen sehr klebrigen Saft enthaltende Fruchtwand ist mit einer rindenartigen, abschelfernden Schicht überdeckt.

An der Pflanze öffnen sie sich nicht, fangen, wenn sie reif sind, sofort zu faulen an, lösen sich dann vom Fruchtsiele und spalten sich beim herunterfallen tief in 2 Klappen. Die Samenhaut ist dünn und weich und bei noch frischen Früchten hellgelb gefärbt mit etwas erhabenen, hellgrünen Adern. Die Kotyledonen sind hart, dick, von innen flach, von aussen stark gewölbt und runzelig.

Millettia Nieuwenhuisii J. J. S. ist für so weit mir bekannt ist, die zweite cauliflore Art der Gattung. Die andere Art, *M. cauliflora* Prain, hat alleinstehende Blüten.

Wahrscheinlich findet sich im botanischen Garten noch ein zweites Exemplar dieser Art (XII F. 32); dieses hat jedoch noch nicht geblüht. Es unterscheidet sich

durch rote, junge Blätter und braunrote Zweige und Blattspindeln.

Es ist mir ein Vergnügen, diese Art Herrn Prof. Dr. A. W. Nieuwenhuis, der durch seine mit grosser Hingebung unternommenen Reisen in Borneo so viel zur Kenntniss dieser grossen Insel hat beigetragen, zu widmen.
